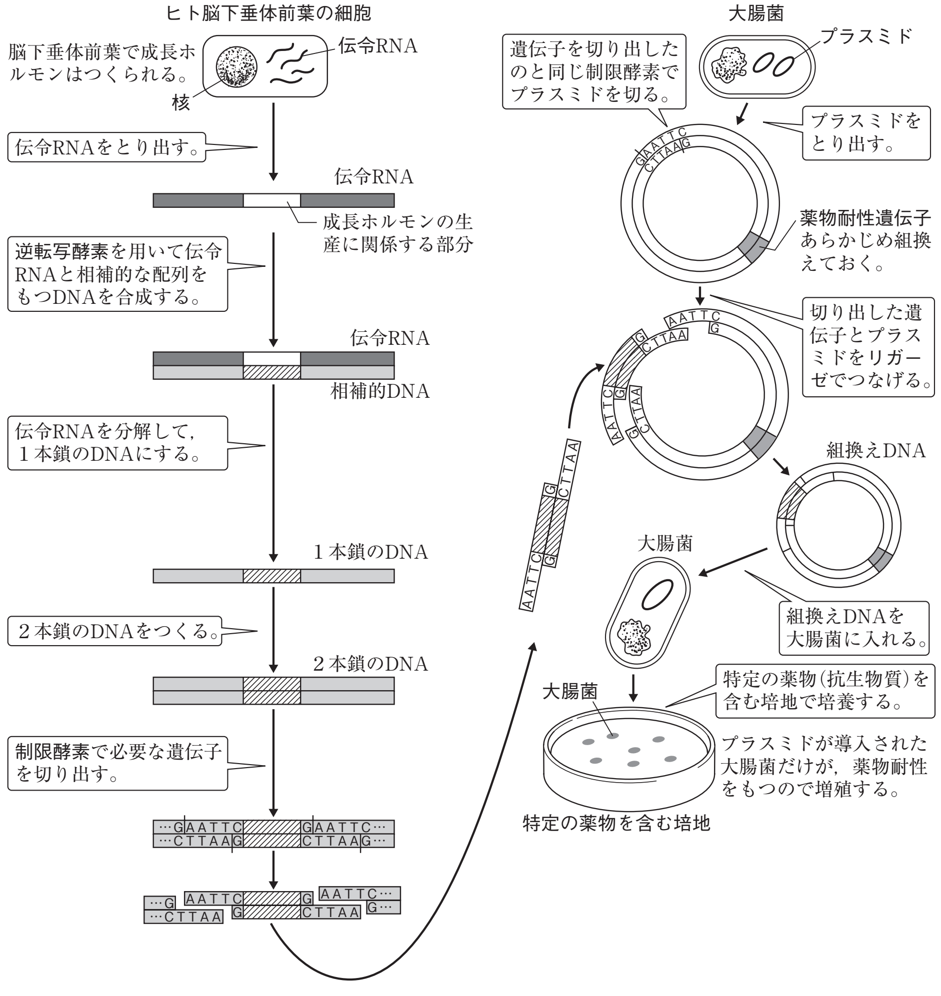
第17講　バイオテクノロジー②

■遺伝子組み換え

…制限酵素とリガーゼを用いて，特定の遺伝子をプラスミドに組み込み，大腸菌に導入する。外来の有用遺伝子を組み込むことで，さまざまな物質を合成させることが出来る。

ex　ヒトの成長ホルモンの合成



ⒸRECRUIT HOLDINGS
本サービスに関する知的財産権その他一切の権利は著作権者に帰属します。
また本サービスに掲載の全部または一部につき無断複製・転載を禁止します。

〈Note〉

©RECRUIT HOLDINGS
本サービスに関する知的財産権その他一切の権利は著作権者に帰属します。
また本サービスに掲載の全部または一部につき無断複製・転載を禁止します。

第17講　演習問題

大腸菌とプラスミドに関する次の文章を読み，問1〜問5に答えよ。

小型で環状のプラスミドDNAは，適切な処理により大腸菌に導入することができる。導入されたプラスミドは，菌の増殖とともに増える。大腸菌などの(a)細胞が別の種や系統の遺伝子を取り込み，その遺伝子が発現すると，元の細胞とは異なる形質を示す。

一般的に，プラスミドは目的のDNA断片を組み込んで利用するが，その操作でプラスミドにDNA断片が組み込まれる確率や，大腸菌にプラスミドが導入される確率は非常に低い。

図1のように，プラスミドXには，抗生物質Aを分解する酵素を発現するA^r遺伝子，ある作用をもったタンパク質Bを発現する*B*遺伝子，およびX−galという基質を分解して青色の物質を生じさせる酵素を発現する*lacZ*遺伝子が存在している。Pで示した部分は，大腸菌における常時発現型プロモーターを表している。プラスミドXには，（ⅰ）〜（ⅳ）で示す部位にDNA断片を組み込むことができる。組み込み操作の際に，(b)DNA断片が組み込まれた場合にのみ，その部分の遺伝子による形質の変化が認められなくなる。なお，（ⅲ）の位置には遺伝子は存在しない。

形質発現の変化を利用して，目的の組換えプラスミドを選別するため，プラスミドXを用いて，〔実験〕を行った。

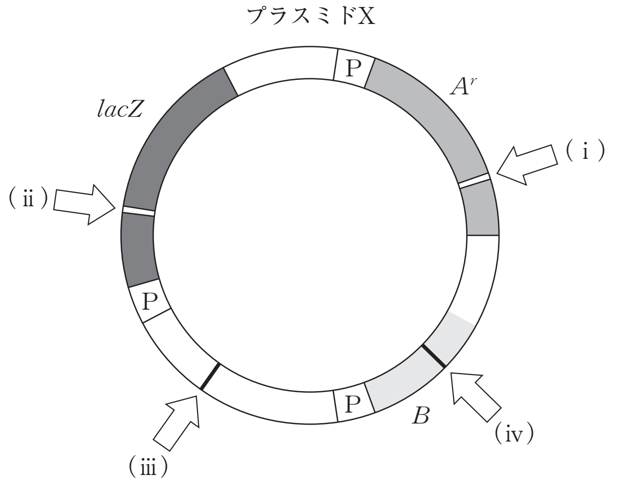


図1

〔実験〕　図1に示すプラスミドXの（ⅳ）の部分に，あるDNA断片を組み込む操作をした後，大腸菌に導入する処理をして，抗生物質Aを含む寒天培地で一晩培養した。その結果，培地には少数の大腸菌コロニーが出現した。すべてのコロニーの大腸菌からプラスミドを単離して調べると，どれも（ⅳ）の位置にDNA断片が組み込まれており，DNA断片が組み込まれていないプラスミドをもつ大腸菌は存在しなかった。このようにして（ⅳ）の位置にDNA断片を組み込んだプラスミドを選別し，これを新たにプラスミドYとした。

©RECRUIT HOLDINGS

本サービスに関する知的財産権その他一切の権利は著作権者に帰属します。
また本サービスに掲載の全部または一部につき無断複製・転載を禁止します。

問１　下線部(a)のような現象を何というか。また，この現象はDNAによって引き起こされることを，肺炎双球菌を用いて示した人物は誰か。

問２　下線部(b)に関して，形質の変化が起こらなくなる理由として最も適切なものはどれか。次の(イ)～(ニ)から１つ選び，記号で答えよ。

(イ)　プラスミドの複製ができなくなるから。
(ロ)　転写が起こらなくなるから。
(ハ)　スプライシングが正しく行われないから。
(ニ)　本来のタンパク質が発現されないから。

問３　〔実験〕の結果から，*B*遺伝子が発現するタンパク質の性質として，最も適切と考えられるものを，次の(イ)～(ニ)から１つ選び，記号で答えよ。

(イ)　抗生物質を菌体外へ排出する輸送タンパク質
(ロ)　大腸菌の増殖を抑制するタンパク質
(ハ)　プロモーター活性を上昇させるタンパク質
(ニ)　*lacZ*タンパク質の酵素活性を阻害するタンパク質

問４　〔実験〕で単離したプラスミドYを，再び別の大腸菌に導入する処理をして，①～⑧の条件で培養すると，表１に示す結果となった。表中の条件⑥の結果⑥に該当するのはどれか。次の(イ)～(ホ)から最も適切なものを１つ選び，記号で答えよ。表中の「＋」と「－」の表記は，それぞれ「有り」と「無し」を意味する。

表１

条件	プラスミドY	X－gal	抗生物質A	培養結果
①	＋	－	＋	白いコロニーのみが少数存在する。
②	＋	＋	＋	青いコロニーのみが少数存在する。
③	－	－	＋	コロニーが存在しない。
④	－	＋	＋	コロニーが存在しない。
⑤	＋	－	－	白いコロニーのみが多数存在する。
⑥	＋	＋	－	結果⑥
⑦	－	－	－	白いコロニーのみが多数存在する。
⑧	－	＋	－	白いコロニーのみが多数存在する。

(イ)　白いコロニーのみが，多数存在する。
(ロ)　青いコロニーのみが，多数存在する。
(ハ)　白いコロニーが多数存在する中に，青いコロニーが少数存在する。
(ニ)　青いコロニーが多数存在する中に，白いコロニーが少数存在する。
(ホ)　コロニーが存在しない。

©RECRUIT HOLDINGS

本サービスに関する知的財産権その他一切の権利は著作権者に帰属します。
また本サービスに掲載の全部または一部につき無断複製・転載を禁止します。

問５　プラスミドYに対して，さらに組換え操作を行い，プラスミドZを作製，単離した。これを大腸菌に導入し，様々な条件で培養すると表2に示す結果となった。プラスミドYに対して行われた組換え操作はどれか。次の(イ)～(ニ)から最も適切なものを1つ選び，記号で答えよ。
表中の「＋」と「－」の表記は，それぞれ「有り」と「無し」を意味する。

表２

条件	プラスミドZ	X－gal	抗生物質A	培養結果
①	＋	－	－	白いコロニーのみが多数存在する。
②	＋	－	＋	コロニーが存在しない。
③	＋	＋	－	白いコロニーが多数存在する中に，青いコロニーが少数存在する。
④	＋	＋	＋	コロニーが存在しない。

(イ)　(i)の位置にDNA断片を挿入した。
(ロ)　(ii)の位置にDNA断片を挿入した。
(ハ)　(iii)の位置にDNA断片を挿入した。
(ニ)　(i)と(ii)の両方の位置にDNA断片を挿入した。

ⒸRECRUIT HOLDINGS
本サービスに関する知的財産権その他一切の権利は著作権者に帰属します。
また本サービスに掲載の全部または一部につき無断複製・転載を禁止します。

第17講　確認テスト

DNAに関する次の文章1を読み，以下の問1，問2に答えよ。

DNA中の特異的な配列のみを認識して切断する酵素（制限酵素）でDNAを切断すると，DNAの断片が生じる。生じたDNA断片の長さは電気泳動という方法で調べることができる。DNA断片の長さがわかると，DNA中の制限酵素切断部位のおよその位置を推定することができる。

制限酵素*Eco*RⅠは二本鎖DNA中の

……………………GAATTC……………………

……………………CTTAAG……………………

という配列を認識し切断する。いま，図1に示す単位が繰り返してできているDNAを*Eco*RⅠで切断すると6.0Kbp（1Kbp＝1キロ塩基対＝1000塩基対）長の全く同一の塩基配列を持つ断片だけが得られた。次に，同じDNAを，*Eco*RⅠとは異なる塩基配列を認識し切断する制限酵素*Hpa*Ⅰで切断すると，4.8Kbpと1.2Kbp長の2つの断片が得られた。さらに，*Eco*RⅠと*Hpa*Ⅰの両方の酵素で切断した場合には2.8Kbp，2.0Kbp，および1.2Kbp長の3つの断片が得られた。なお，図1のア～ウは制限酵素の切断点を，数字は切断点間の長さ（単位はKbp）を示す。

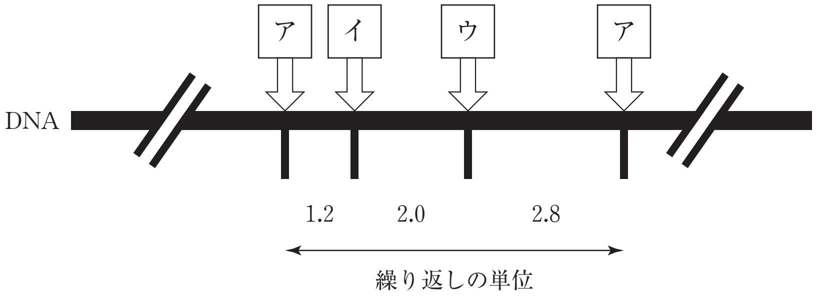


図１

問１　図1の［ア］～［ウ］を切断する制限酵素の組み合わせとして適切なものをa)～e)のうちから選べ。ただし，適切なものがない場合はf欄にマークせよ。

	ア	－	イ	－	ウ
a)	*Eco*RⅠ	－	*Eco*RⅠ	－	*Hpa*Ⅰ
b)	*Eco*RⅠ	－	*Hpa*Ⅰ	－	*Eco*RⅠ
c)	*Eco*RⅠ	－	*Hpa*Ⅰ	－	*Hpa*Ⅰ
d)	*Hpa*Ⅰ	－	*Eco*RⅠ	－	*Eco*RⅠ
e)	*Hpa*Ⅰ	－	*Hpa*Ⅰ	－	*Eco*RⅠ

問２　仮に，DNAの塩基配列がランダムである（不規則である）とき，*Eco*RⅠの切断点はおよそ何塩基対ごとにDNA上に存在することになるか。最も近いものをa)～e)のうちから選べ。

a）40000　b）4000　c）400　d）40　e）4

ⒸRECRUIT HOLDINGS

本サービスに関する知的財産権その他一切の権利は著作権者に帰属します。
また本サービスに掲載の全部または一部につき無断複製・転載を禁止します。

＜Note＞

ⒸRECRUIT HOLDINGS

本サービスに関する知的財産権その他一切の権利は著作権者に帰属します。
また本サービスに掲載の全部または一部につき無断複製・転載を禁止します。

第17講　演習問題

問１　形質転換，エイブリー［アベリー］

問２　(ニ)

問３　(ロ)

問４　(ハ)

問５　(イ)

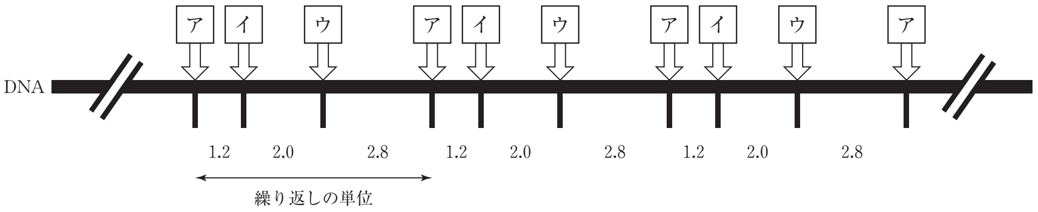
©RECRUIT HOLDINGS
本サービスに関する知的財産権その他一切の権利は著作権者に帰属します。
また本サービスに掲載の全部または一部につき無断複製・転載を禁止します。

第17講　確認テスト

問1　e）
問2　b）

【解説】

問1　DNAが6.0Kbpの単位を繰り返していることに注意したい。



もしも，[ア]が制限酵素*Eco*RⅠで切断されるとすると，*Eco*RⅠでの切断で6.0Kbpの断片が得られるためには，[イ]，[ウ]は*Eco*RⅠでは切断されないことになる。だが，[イ]，[ウ]が制限酵素*Hpa*Ⅰで切断されるとすると，2.0KbpのDNA断片が生じることになる。これは，実際の*Hpa*Ⅰで処理した結果とは矛盾するため，[ア]は*Eco*RⅠではなく，*Hpa*Ⅰで切断されることになる。また*Hpa*Ⅰのみで処理することで，4.8Kbpと1.2Kbpの断片が生じるためには*Hpa*Ⅰによって[イ]も切断されなくてはならない。ゆえに，eが正解となる。

問2　制限酵素*Eco*RⅠは2本鎖DNAに含まれる特定の6塩基対の配列を認識して切断する。塩基がランダムに並んでいると仮定した場合，その特定の6塩基対の配列が生じる確率は$\left(\frac{1}{4}\right)^6=\frac{1}{4096}$となる。すなわち，平均して4096塩基ごとに1回切断されることになるため，bが正解となる。

ⒸRECRUIT HOLDINGS

本サービスに関する知的財産権その他一切の権利は著作権者に帰属します。
また本サービスに掲載の全部または一部につき無断複製・転載を禁止します。